

## AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK *Spirulina* YANG DIKULTUR PADA MEDIA WALNE DAN MEDIA ORGANIK

Putriana Sari Sirait<sup>1\*</sup>, Iriani Setyaningsih<sup>1</sup>, dan Kustiariyah Tarman<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat

<sup>2</sup>Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Institut Pertanian Bogor (PKSPL-LPPM IPB)

\*Korespondensi : putrianasarisirait@gmail.com

Diterima: 28 Februari 2019 /Disetujui: 29 Maret 2019

**Cara sitasi:** Sirait PS, Setyaningsih I, Tarman K. 2019. Aktivitas antikanker ekstrak *Spirulina* yang dikultur pada media Walne dan media organik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(1): 50-59.

### Abstrak

*Spirulina* merupakan mikroalga kelompok *Cyanobacteria* yang mengandung komponen aktif yang berpotensi sebagai antikanker. Tujuan penelitian ini yaitu menentukan aktivitas antikanker dan selektivitas ekstrak kasar *Spirulina* yang dikultur menggunakan media Walne dan organik, serta deteksi apoptosisnya. Tahapan penelitian ini meliputi kultivasi dan pemanenan *Spirulina*, ekstraksi komponen aktif, uji antikanker dan deteksi apoptosis. Aktivitas antikanker diuji menggunakan MTT assay. Ekstrak kasar *Spirulina* hasil kultur Walne dan organik memiliki komponen aktif alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin, serta tidak bersifat toksik terhadap sel normal payudara (MCF-12a), tetapi memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara (MCF-7). Ekstrak kasar *Spirulina* hasil kultur Walne memiliki nilai  $IC_{50}$  yaitu 36,23 ppm dan indeks selektivitas 30,07, sedangkan nilai  $IC_{50}$  hasil kultur organik yaitu 117,78 ppm dan indeks selektivitas 7,17. Deteksi apoptosis dengan pewarna Hoechst 33342 menunjukkan adanya aktivitas apoptosis ekstrak kasar *Spirulina* terhadap sel MCF-7.

Kata kunci: apoptosis, Hoechst 33342, MCF-12a, MCF-7, mikroalga.

### *Anticancer Activity of Spirulina Cultivated in Walne and Organic Media*

#### Abstract

*Spirulina* is *Cyanobacteria* containing active components which is potentially showing anticancer activity. The purposes of this study were to determine anticancer activity and selectivity of crude extracts of *Spirulina* cultured using Walne and organic media, and to detect the apoptosis. The stages of this study included cultivation and harvesting of *Spirulina*, active components extraction, anticancer test and apoptosis detection. Anticancer activity was determined using MTT assay. The crude extracts of *Spirulina* from Walne and organic cultures contained active components of alkaloids, flavonoids, steroids, and saponins. These extracts were not toxic to normal breast cells (MCF-12a), but showed cytotoxic activity in breast cancer cells (MCF-7). The crude extract of *Spirulina* from Walne culture had  $IC_{50}$  value of 36.23 ppm and selectivity index 30.07, while the  $IC_{50}$  of organic culture was 117.78 ppm and selectivity index 7.17. Detection of apoptosis with Hoechst dye 33342 showed the apoptotic activity of *Spirulina* crude extract against MCF-7 cells.

Keywords: apoptosis, Hoechst 33342, MCF-12a, MCF-7, microalgae.

## PENDAHULUAN

*Spirulina* adalah sianobakteri atau mikroalga hijau biru. Biomassa *Spirulina* mengandung komponen kimia di antaranya protein 55-70%, lipid 4-6%, karbohidrat 17-25%, asam lemak tidak jenuh majemuk seperti asam linoleat (LA) dan  $\gamma$ -linoenat (GLA). *Spirulina* juga mengandung vitamin di antaranya asam nikotinat, riboflavin, thiamin, sianokobalamin, mineral, asam amino dan bahan aktif lainnya seperti karotenoid, pigmen klorofil, dan fikosianin (Suharyanto *et al.* 2014).

Komposisi kimia yang terkandung pada *Spirulina* tergantung pada media yang digunakan. Media pertumbuhan *Spirulina* yang selama ini digunakan antara lain Zarrouk atau Walne. Fahleny *et al.* (2014) melaporkan bahwa *Spirulina* dapat ditumbuhkan pada media organik dengan nilai rapat optis kultur pertumbuhan *Spirulina* dalam media organik sebanding dengan media Walne dan menghasilkan komponen aktif flavonoid, steroid, fenol hidrokuinon dan saponin.

Syahril *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak kasar etanol *Spirulina platensis* dapat menghambat sel kanker payudara (MCF-7) pada konsentasi 85  $\mu\text{g/mL}$ . Skrining antikanker oleh Canan (2012) menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan fikosianin dari *Spirulina* hasil kultivasi dengan media Zarrouk mampu menghambat berbagai jenis sel kanker, salah satunya sel MCF-7.

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang menjadi perhatian. Kanker ini berasal dari kelenjar susu, saluran kelenjar dan jaringan penunjang payudara (Purwatiningsih *et al.* 2008). Tingkat insidensi kanker payudara di kalangan wanita adalah 1 berbanding 8. Kanker payudara merupakan penyebab kematian tertinggi kedua dari semua jenis kanker di Indonesia, sekitar 60-80% ditemukan pada stadium lanjut dan berakibat fatal (Kemenkes 2015).

Pengobatan kanker dilakukan dengan empat cara utama yaitu melalui pembedahan, radiasi, kemoterapi dan terapi biologi (DiPiro *et al.* 2009). Pengobatan tersebut selain mahal, terkadang memiliki efek samping. Inovasi yang dapat dikembangkan yaitu dengan memanfaatkan mikroorganisme

yang dapat dikultivasi, tidak tergantung musim dan dapat menghasilkan biomassa yang banyak, yaitu *Spirulina* sebagai sumber senyawa antikanker.

Media yang umum digunakan untuk kultivasi *Spirulina* adalah media Walne. Mahalnya biaya bahan untuk membuat media ini sehingga dipilih media organik sebagai media alternatif untuk kultivasi. Sampai saat ini, belum ada penelitian mengenai aktivitas antikanker khususnya kanker payudara dari *Spirulina* hasil kultivasi dengan media organik. Oleh karena itu, penelitian mengenai aktivitas antikanker *Spirulina* hasil kultivasi dengan media Walne dan media organik sangat perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antikanker dan selektivitas ekstrak *Spirulina* yang dikultur menggunakan media Walne dan media organik, serta deteksi aktivitas apoptosis.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu inokulum *Spirulina* yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara-Jawa Tengah, air tawar, air laut 15 ppt, akuades, media Walne dan organik (RI1 dan Urea), bufer fosfat teknis, reagen uji komponen aktif, sel MCF-12a (ATCC CRL-10782), sel MCF-7 (ATCC HTB-22), media kultur DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (Gibco), larutan PBS (Sigma-Aldrich), DMSO 1 % (Sigma-Aldrich), etanol p.a. 96 % (Sigma-Aldrich), larutan pereaksi MTT (Sigma-Aldrich) dan Hoescht 33342 (Sigma-Aldrich).

Alat yang digunakan yaitu perlengkapan kultivasi, lampu TL (Philips), refraktrometer (Atago), spektrofotometer UV-VIS (Spektronik UV-Vis IR-U-2500), refrigerator (Sharp), rotary evaporators (Heidolph VV 2000), timbangan digital (Quattro), magnetic stirrer (79-1 Magnetic stirrer with Heater), vortex (thermolyne), sentrifuse (Heraeus pyco17), oven (EHRET TK/L 4067), microplate 96-well (Iwaki), spectrophotometric plate reader (i Mark Microplate Reader S/N 11421), mikropipet (Ependorf), 8-well slide chamber (Nunc), inkubator CO<sub>2</sub> (Heraeus) dan mikroskop fluoresens (Zeiss MC 80).

## Metode Penelitian

### Kultivasi *Spirulina*

*Spirulina* dikultivasi di dalam toples menggunakan media Walne dan media organik (RI1 dan Urea), dengan suhu ruang (20-25°C), intensitas cahaya 3000 lux, salinitas air laut 15 ppt dan bibit yang digunakan 20% dari volume kultur. *Spirulina* dipanen pada hari ke-12 dengan nilai *Optical Density*  $\geq 0,5$  (Pelczar dan Chan 2006) menggunakan *nylon mesh* berukuran 20 mikron. Biomassa kemudian dikeringkan dengan metode oven (40°C) selama 24 jam.

### Ekstraksi *Spirulina*

Ekstraksi senyawa aktif *Spirulina* dilakukan menggunakan pelarut polar (etanol 96%) dengan konsentrasi 1:20 (b/v) kemudian dimaserasi selama 3 x 24 jam pada suhu ruang, selanjutnya sampel dievaporasi menggunakan *vacuum evaporator* dengan suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kasar kering.

### Prosedur Analisis

#### Analisis komponen bioaktif

Analisis komponen aktif sampel *Spirulina* mengacu pada Harborne (1996) yang meliputi pengujian senyawa alkaloid, steroid, saponin, flavonoid dan fenol hidrokuinon.

#### Analisis aktivitas dan selektivitas antikanker secara *in vitro*

Pengujian antikanker dilakukan terhadap sampel *Spirulina* dengan mengacu pada Zachary (2003). Sel lestari kanker didapatkan dari hasil kultur di Pusat Studi Satwa Primata (PSSP-IPB). Uji toksisitas dilakukan dengan metode 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) terhadap sel normal payudara (MCF-12a) dan sel kanker payudara (MCF-7). Sel yang tidak mendapat perlakuan digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan kontrol positif yaitu doksorubisin. Sel hidup akan bereaksi dengan reagen MTT membentuk formazan dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 595 nm menggunakan *spectrophotometric plate reader*. Persentase penghambatan sel kemudian dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari plot hubungan antara konsentrasi sampel sebagai sumbu-x (absis) dan % aktivitas penangkapan DPPH radikal sebagai sumbu-y (ordinat), setelah didapatkan nilai  $IC_{50}$  pada sel normal (MCF-12a) maupun sel kanker payudara (MCF-7) maka dapat dihitung nilai SI (*selectivity index*) yang menunjukkan selektivitas sampel terhadap sel yang diuji menggunakan rumus:

$$\text{Nilai SI} = \frac{IC_{50} \text{ sel normal}}{IC_{50} \text{ sel kanker}}$$

### Deteksi apoptosis sel menggunakan pewarna Hoescht 33342

Sel kanker (MCF-7) yang dikultur dalam 8-well slide chamber dengan konsentrasi 10.000 sel/slide diberi perlakuan konsentrasi sesuai dengan nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan. Pewarnaan sel menggunakan Hoechst 33342 mengacu pada Kim *et al.* (2007). Pengamatan apoptosis sel dilakukan menggunakan mikroskop fluoresens UV-2A dengan panjang gelombang eksitasi 330-380 nm.

### Analisis Data

Penghitungan nilai  $IC_{50}$  menggunakan analisis regresi linier untuk mengetahui besarnya konsentrasi suatu bahan yang dapat menghambat aktivitas sel kanker sebanyak 50%. Penghitungan nilai *selectivity index* (SI) dengan menghitung  $IC_{50}$  sel normal dibagi dengan  $IC_{50}$  sel kanker. Ekstrak dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai  $SI \geq 3$  dan dikatakan kurang selektif apabila nilai  $SI < 3$ . Data hasil penelitian dibahas secara deskriptif, disajikan dalam bentuk grafik dan tabel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kultivasi dan Ekstraksi *Spirulina*

Kultivasi dengan media Walne memiliki *optical density* (OD) yang lebih tinggi dibandingkan dengan media organik (Figure 1). Perbedaan pertumbuhan sel pada penelitian ini dipengaruhi oleh perbedaan media yang digunakan untuk pertumbuhan sel.

Pertumbuhan didefinisikan sebagai pembelahan sel (peningkatan jumlah) dan pembesaran sel (peningkatan ukuran), kedua

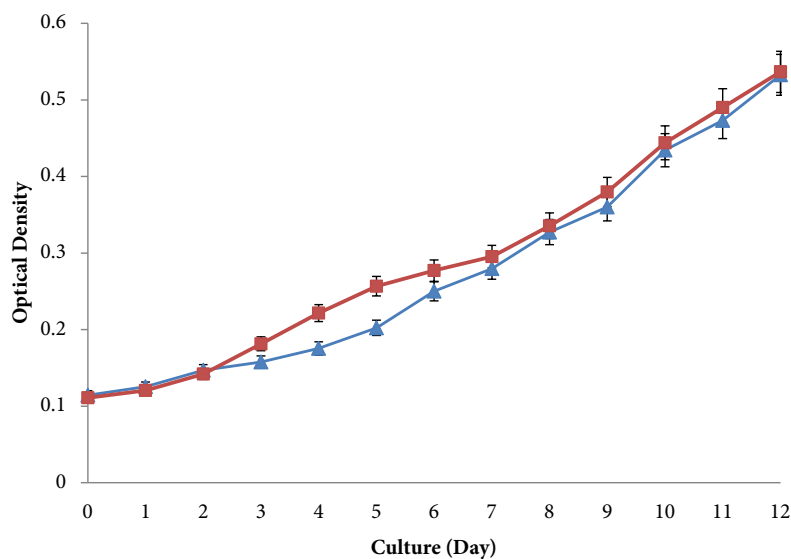


Figure 1 Growth of *Spirulina* in Walne ( —■— ) and organic media ( —▲— ).

proses ini memerlukan sintesis protein. Colla *et al.* (2007) menyatakan bahwa nitrogen diperlukan pada proses sintesis asam amino sebagai penyusun protein di dalam sel. Konsentrasi nitrogen yang semakin meningkat dalam media kultur dapat menyebabkan peningkatan pembentukan protein yang akan berdampak pada peningkatan kepadatan populasi mikroalga tersebut.

*Spirulina* yang dikultur dalam media Walne menghasilkan biomassa kering lebih banyak yaitu  $0,33 \pm 0,02$  g/L dibandingkan pada kultur organik yaitu  $0,17 \pm 0,01$  g/L. Hasil penelitian Costa *et al.* (2001) menunjukkan bahwa biomassa *Spirulina platensis* maksimum diproduksi dalam media yang mengandung natrium nitrat (1,992 g/L), amonium nitrat (0,993 g/L) dan Urea (0,910 g/L).

Perbedaan hasil biomassa kering dipengaruhi oleh perbedaan sumber nitrogen dalam media kultivasi. Chester (1990) menyatakan bahwa nitrogen terbagi menjadi nitrogen organik dan anorganik. Nitrogen anorganik terdiri atas ion nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ), ion nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), ammonia ( $\text{NH}_3$ ), ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dan molekul  $\text{N}_2$  yang larut dalam air, sedangkan nitrogen organik berupa protein, asam amino dan urea akan mengendap dalam air.

Media Walne memiliki dua sumber nitrogen dalam komposisinya yaitu ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dan ion nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ),

sedangkan media organik hanya memiliki urea sebagai sumber nitrogen. Amanatin dan Nurhidayati (2013) menyatakan bahwa urea ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) terlarut akan terbentuk ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) yang akan diasimilasi oleh mikroalga dan diubah menjadi glutamat sebagai salah satu penyusun asam amino.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan pelarut etanol. Rendemen ekstrak kasar *Spirulina* yang dihasilkan dapat dilihat pada Table 1.

Berat dan rendemen ekstrak kasar *Spirulina* yang dikultivasi dalam media organik lebih tinggi dibandingkan dengan hasil kultur media Walne yaitu 17,37%. Perbedaan pada kedua sampel tersebut diduga karena kadar air pada kedua sampel berbeda. Kadar air pada biomassa kultur organik lebih besar dibandingkan pada biomassa kultur Walne dengan nilai masing-masing  $10,89 \pm 0,34\%$  dan  $7,34 \pm 0,22\%$ . Perbedaan kadar air dipengaruhi oleh derajat keterikatan air dalam bahan (Rusmono *et al.* 2016).

### Komponen aktif *Spirulina*

Analisis fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan fenol hidrokuinon. Uji ini sangat bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan

Table 1 Yield of *Spirulina* crude extracts

Culture	Walne media	Organic media
Extract weight (g)	0.26	0.41
Yield (%)	11.76	17.37
Form	Oily paste	Oily paste
Colour	Dark green	Dark green

(Simbala 2009). Hasil penapisan fitokimia *Spirulina* yang dikultur dalam media berbeda dapat dilihat pada Table 2.

Ekstrak kasar *Spirulina* hasil kultur Walne dan organik memiliki komponen aktif alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin. Bezerra *et al.* (2006) dan Nishiumi *et al.* (2014) menyatakan bahwa senyawa aktif *piperidinone*, *piperidine*, *hexadecanenitrile* merupakan komponen golongan senyawa alkaloid yang berperan dalam penghambatan kanker.

Flavonoid termasuk ke dalam senyawa polifenol, metabolit sekunder dari tanaman dan memiliki aktivitas sebagai antikanker. Flavonoid mengandung kuersetin yang berasal dari subkelas flavonol. Kuersetin, genistein atau flavopiridol dapat dijadikan sebagai bahan untuk obat kanker (Ravishankar *et al.* 2013). Mekanisme flavonoid sebagai antikanker menurut Ren *et al.* (2003) yaitu penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-xl serta aktivasi endonuklease.

Salvador *et al.* (2012) melaporkan bahwa steroid dapat digunakan sebagai agen antikanker karena memiliki enzim penghambat diantaranya aromatase dan sulfatase inhibitor untuk kanker payudara. Zakaria *et al.* (2011) menyatakan mekanisme kerja senyawa ini adalah merusak permeabilitas membran mitokondria pada sel atau menyebabkan sel mengalami nekrosis dan kematian. Yildirim dan Kutlu (2015) menyatakan senyawa saponin secara struktural memiliki satu atau lebih gugus glikosida hidrofilik dan dapat terlibat dalam replikasi DNA serta mencegah proliferasi sel kanker.

### Aktivitas Antikanker dan Selektivitas *Spirulina* secara *In Vitro*

Pengujian antikanker dalam penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode MTT assay (mikrokultur tetrazolium). Prinsip dari metode ini yaitu mengukur aktivitas dehidrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang memiliki kemampuan untuk mengkonversi MTT menjadi formazan. Hasil inhibisi aktivitas antikanker secara *in vitro*

Table 2 Bioactive compounds of *Spirulina* crude extracts.

Bioactive compound	Crude extract	
	Walne media	Organic media
Alkaloid		
Dragendorff	+	+
Wagner	-	-
Meyer	+	+
Flavonoid	+	+
Steroid	+	+
Fenol hidrokuinon	-	-
Saponin	+	+

Note: (-) Undetected (+) Detected



pada sel MCF-12a dan MCF-7 dapat dilihat pada *Figure 2*.

*Figure 2a* menunjukkan hasil bahwa inhibisi ekstrak kasar *Spirulina* hasil kultur Walne dan organik terhadap sel normal payudara (MCF-12a) <50%. Wikanta *et al.* (2010) menyatakan bahwa inhibisi pertumbuhan <50% menunjukkan inhibisi pertumbuhan lemah sehingga bioaktivitas sampel terhadap sel lestasi tumor dikatakan tidak aktif.

*Figure 2a* menunjukkan bahwa terjadi penurunan inhibisi pada ekstrak kasar hasil kultur Walne pada konsentrasi 80 ppm dan 160 ppm. Davison *et al.* (2010) menyatakan bahwa efek *dose-independent* dalam uji efek inhibisi pada produk alam umumnya disebabkan oleh efek saturasi senyawa penghambat di dalam sel. Hasil kontrol positif yaitu Doksorubisin dengan kadar 3 ppm menghambat sel normal payudara (MCF-12a) >50% yaitu sebesar 50,79%. Wikanta *et al.* (2010) menyatakan bahwa inhibisi pertumbuhan >50%-100% menunjukkan inhibisi pertumbuhan sedang sampai kuat sehingga bioaktivitas doksorubisin (3 ppm) terhadap sel lestasi tumor dikatakan aktif.

Doksorubisin merupakan agen kemoterapi golongan antrasiklin yang memiliki aktivitas antikanker spektrum luas dan telah digunakan pada berbagai jenis kanker seperti kanker payudara. Penggunaan doksorubisin sebagai agen kemoterapi dibatasi oleh efek toksik terhadap jaringan normal terutama jantung dan menekan sistem

imun serta pengurangan dosis doksorubisin mampu mengurangi efek samping (Wattanapitayakul *et al.* 2005).

*Figure 2b* menunjukkan bahwa hasil inhibisi ekstrak kasar *Spirulina* hasil kultur Walne dan organik terhadap sel kanker payudara (MCF-7) >50% dan Doksorubisin menghambat sel kanker payudara (MCF-7) yaitu 92,26%. Wikanta *et al.* (2010) menyatakan bahwa inhibisi pertumbuhan >50%-100% menunjukkan inhibisi pertumbuhan sedang sampai kuat sehingga bioaktivitas ekstrak terhadap sel lestasi tumor dikatakan aktif.

*Figure 2* juga menunjukkan bahwa sampel yang diujikan pada sel MCF-7 memiliki inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan pada sel MCF-12a. Hal ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak kasar *Spirulina* hasil penelitian memiliki mekanisme inhibisi yang lebih spesifik terhadap sel kanker dan aman pada sel normal.

Sitotoksitas sel juga dapat dilakukan secara kualitatif dengan pengamatan morfologi sel. Kenampakan sel MCF-12a dan sel MCF-7 pada kontrol negatif, pemberian sampel dan kontrol positif (Doksorubisin) dapat dilihat pada *Figure 3* dan 4.

*Figure 3* menunjukkan morfologi sel normal payudara (MCF-12a) sedangkan *Figure 4* menunjukkan morfologi sel kanker payudara (MCF-7). Sel hidup ditandai dengan bentuk epitel dan berwarna terang, sedangkan sel mati ditandai dengan bentuk bulat dan berwarna gelap (tidak bercahaya). Puspitasari dan Ulfa (2009) menyatakan bahwa morfologi

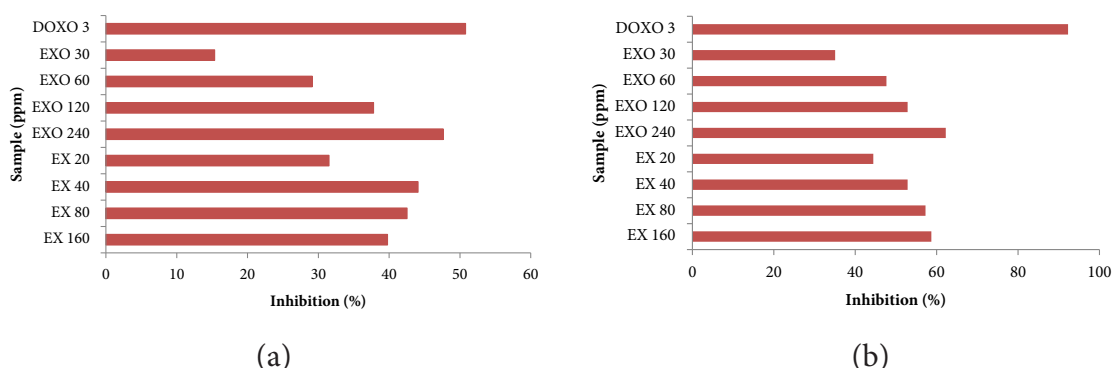


Figure 2 Inhibition of crude extract of *Spirulina* on (a) MCF-12a cell and (b) MCF-7 cell. Samples were crude extracts of *Spirulina* cultured in Walne (EX), organic media (EXO), and doxorubicin (DOXO) as positive control.

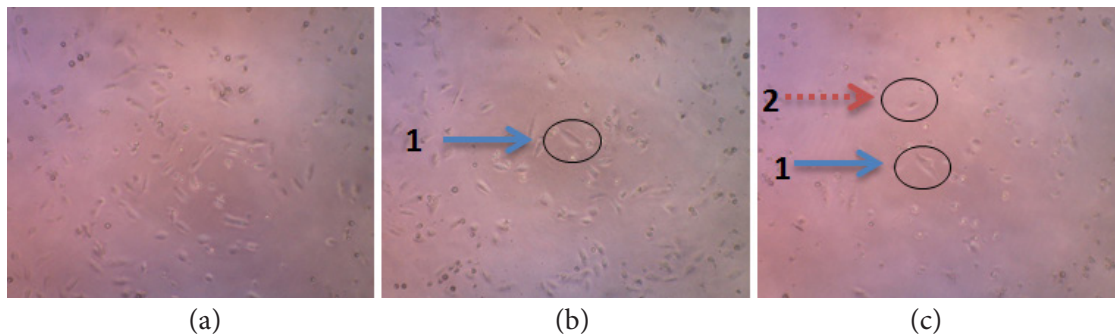


Figure 3 MCF-12a cell morphology with 400x magnification. (a) Without sample addition (negative control), (b) sample addition, (c) addition of doxorubicin (positive control). The living cell was shown with (1)  $\rightarrow$  and dead cell shown with (2)  $\rightarrow$

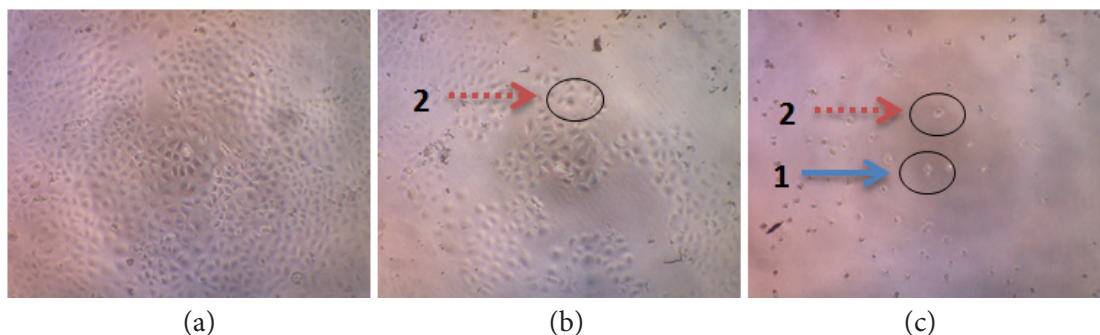


Figure 4 MCF-7 cell morphology with 400x magnification. (a) Without sample addition (negative control), (b) sample addition, (c) addition of doxorubicin (positive control). The living cell was shown with (1)  $\rightarrow$  and dead cell shown with (2)  $\rightarrow$

sel hidup tampak bersinar cemerlang dan batas membran dengan media akan terlihat jelas, sedangkan sel mati tampak bulat, gelap, tidak bercahaya dan membran selnya terlihat pecah atau agak samar.

Aktivitas sitotoksik dari ekstrak yang menyerang sel-sel kanker dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori. Kategori pertama sangat aktif jika  $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ , kategori kedua adalah aktif jika  $IC_{50} 10-100 \mu\text{g/mL}$  dan ketiga adalah cukup aktif jika  $IC_{50} 100-500 \mu\text{g/mL}$  (Weerapreeyakul 2012). Zat dikatakan tidak memiliki aktivitas sitotoksik bila nilai  $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$  (Machana *et al.* 2011). Nilai  $IC_{50}$  *Spirulina* pada sel MCF-12a dan MCF-7 dapat dilihat pada Table 3.

Berdasarkan Weerapreeyakul (2012) dan Machana *et al.* (2011), ekstrak kasar *Spirulina* hasil kultur Walne dan organik tidak bersifat toksik terhadap sel normal

payudara (MCF-12a), tetapi memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara (MCF-7) (Table 3). Penelitian Syahril *et al.* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Spirulina* efektif menghambat pertumbuhan sel kanker MCF-7 pada konsentrasi 85 ppm, sedangkan pada penelitian ini ekstrak etanol *Spirulina* hasil kultur Walne memiliki nilai  $IC_{50}$  36,23 ppm.

Selektivitas obat antikanker dapat diukur dengan menghitung indeks selektivitas yaitu menghitung  $IC_{50}$  sel normal dibagi dengan  $IC_{50}$  sel kanker (Badisa *et al.* 2009). Machana *et al.* (2011) menyatakan nilai *selectivity index* (SI)  $> 3$  menunjukkan selektivitas tinggi. Tingginya selektivitas sampel *Spirulina* (Table 3) menunjukkan adanya potensi *Spirulina* sebagai agen kemopreventif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rollando (2016) yaitu nilai

Table 3 IC<sub>50</sub> value and selectivity index of *S. platensis* on MCF-12a and MCF-7 cells

Value	Walne media	Category	Organic media	Category
IC <sub>50</sub> on MCF-12a	1089.33	Inactive	844.19	Inactive
IC <sub>50</sub> on MCF-7	36.23	Active	117.78	Moderately active
Selectivity index	30.07	High	7.17	High

*selectivity index* yang disyaratkan adalah >3 menandakan bahwa sampel mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker tanpa mempengaruhi sel normal dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemopreventif.

Agen kemopreventif adalah suatu senyawa yang dapat mencegah dan menghambat perkembangan sel kanker. Selektivitas agen kemopreventif yaitu hanya sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker saja yang diserang, sementara sel normal tidak diserang. Mekanisme ini sangat berbeda dengan cara kerja obat kemoterapi yang menyerang sel kanker dan juga sel normal. Akibatnya sel normal ikut rusak dan mati yang berakibat pada timbulnya berbagai macam efek samping (Sutejo *et al.* 2016).

### Deteksi Apoptosis Ekstrak kasar *Spirulina* pada sel MCF-7

Apoptosis merupakan kematian sel secara terprogram pada kondisi fisiologis maupun patologis (Xue *et al.* 2014). Sel apoptosis dapat dideteksi secara mikroskopi dengan bantuan pewarna fluoresen Hoechst (Kim *et al.* 2007).

Figure 5 menunjukkan bahwa sel MCF-7 yang mengalami apoptosis

memancarkan cahaya fluoresen. Puwarni (2011) menyatakan bahwa pewarna Hoechst (benza-midin) berikatan dengan pasangan basa A-T sehingga menghasilkan cahaya fluoresen pada sel apoptosis.

Pengamatan secara immuno-sitokimia dengan pewarnaan inti/DNA juga menunjukkan bahwa sel MCF-7 mengalami perubahan morfologi secara seluler (Figure 5). Wyllie (2010) menyatakan bahwa perubahan morfologi seluler akibat mekanisme apoptosis ini dapat terjadi dalam beberapa tahapan yaitu penyusutan densitas sel, kondensasi dan fragmentasi kromatin sel serta fragmentasi inti sel.

### KESIMPULAN

Ekstrak kasar *Spirulina* hasil kultur Walne dan organik tidak bersifat toksik terhadap sel normal payudara (MCF-12a), tetapi memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara (MCF-7), dengan selektivitas tinggi (SI >3). Penghambatan pada sel kanker dipengaruhi oleh kandungan komponen aktif berupa flavonoid dan saponin. Deteksi apoptosis dengan pewarna Hoechst 33342 menunjukkan adanya aktivitas apoptosis ekstrak kasar *Spirulina* terhadap sel MCF-7.

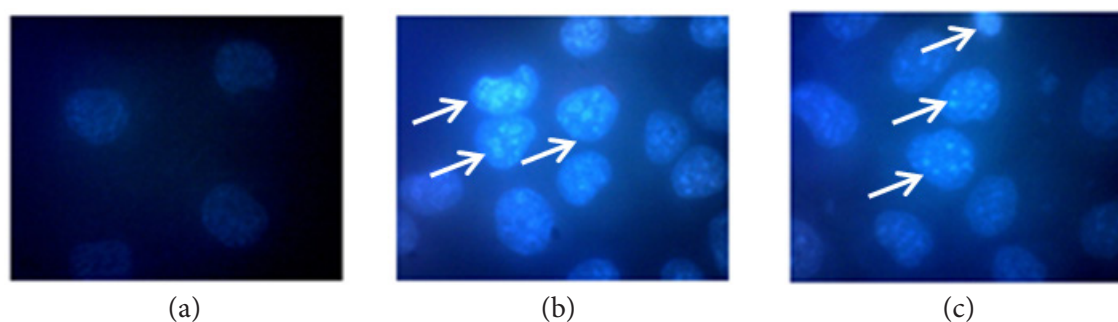


Figure 5 Induced apoptosis on MCF-7 cell (a) control, (b) crude extract *Spirulina* cultured in Walne media, (c) crude extract *Spirulina* cultured in organic media. White arrow showed fluorescence that indicated cell induced apoptosis.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penyedia Dana Pendidikan, Kementerian Keuangan Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini yang merupakan bagian dari tesis penulis pada beasiswa Magister LPDP.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Kemenkes] Kementerian Kesehatan. 2015. Situasi Penyakit Kanker. [www.depkes.go.id](http://www.depkes.go.id) [24 April 2016].
- Amanatin DR, Nurhidayati T. 2013. Pengaruh kombinasi konsentrasi media ekstrak taugé (MET) dengan pupuk urea terhadap kadar protein *Spirulina* sp. *Jurnal Sains dan Seni*. 2(2): 2337-3520.
- Badisa RB, Selina F, Darling-Reed, Patrick J, John SC, Lekan ML, Goodman CB. 2009. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on MCF-7 cells. *Anticancer Research*. 1-9.
- Bezerra DP, Castro FO, Alves AP, Pessoa C, Moraes MO, Silveira ER, Lima MA, Elmiro FJ, Costa-Lotufo LV. 2006. In vivo growth-inhibition of Sarcoma 180 by pipartine and piperine, two alkaloid amides from Piper. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 39(6): 801-806.
- Canan. 2012. Screening anticancer activities of *Spirulina platensis* extracts on various cancer cell lines. [akademikpersonel.kocaeli.edu.tr/](http://akademikpersonel.kocaeli.edu.tr/) [24 April 2016].
- Colla LM, Reinehr CO, Reichert C, Costa JAV. 2007. Production of biomass and nutraceutical compound by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*. 98(7): 1489-1493.
- Costa JAV, Cozza KL, Oliveira L, Magagnin G. 2001. Different nitrogen sources and growth responses of *Spirulina platensis* in microenvironments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 17:439-442.
- Chester R. 1990. Marine Geochemistry. London (UK): Unwin Hyman.
- Davison Z, Nicholson RI, Denyer SP, Heard CM. 2010. A novel diffusion cell model for the in vitro assessment of transcutaneous breast cancer therapeutics: Effect of permeants on MCF-7 cells cultured within the receptor compartment. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 75(3):411-348.
- DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2009. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach 7<sup>th</sup> Ed. United States (US): McGraw-Hill Companies.
- Fahleny R, Trilaksani W, Setyaningsih I. 2014. Aktivitas antioksidan pada formula terpilih tablet hisap *Spirulina* berdasarkan karakteristik fisik. *Jurnal Ilmu dan Kelautan Tropis*. 6(2): 427-444.
- Harbone JB. 1996. *Phytochemical Method*. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedro (penerjemah). Bandung (ID): ITB.
- Kim EJ, Park SY, Shin HK, Kwon DY, Surh YJ, Park JH. 2007. Activation of caspase-8 contributes to 3,3'-diindolylmethane-induced apoptosis in colon cancer cells. *Journal of Nutrition*. 137: 31-36.
- Machana S, Weerapreeyakul N, Barusrux S, Nonpunya A, Sripanidkulchai B, Thitimetharoch T. 2011. Cytotoxic and apoptotic effects of six herbal plants against the human hepatocarcinoma (HepG2) cell line. *Chinese Medical Journal*. 6(39): 1-8.
- Nishiumi S, Suzuki M, Kobayashi T, Matsubara A, Azuma T, Yoshida M. 2014. Metabolomics for biomarker discovery in gastroenterological cancer review. *Journal of Metabolites*. 4: 547-571.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerjemah: Ratna SH, Teja I, Sri ST, Sri LA. Jakarta (ID): UI Press.
- Purwatiningsih T, Alamudin A, Noorwati S. 2008. Deskripsi data rekam medis penyakit kanker payudara rumah sakit kanker Dharmais pada bulan Oktober tahun 1993 sampai dengan bulan Maret tahun 2003. [Tesis]. Bogor (ID): Insitut Pertanian Bogor.
- Puwarni EY. 2011. Penghambatan proliferasi sel kanker kolon HCT-116 oleh produk fermentasi pati resisten tipe 3 sagu dan beras. [Tesis]. Bogor (ID): Insitut Pertanian Bogor.

- Puspitasari E, Ulfa EU. 2009. Uji sitotoksitas ekstrak metanol buah buni (*Antidesma buntus* (L) Spreng) terhadap sel HeLa. *Jurnal Ilmu Dasar*. 10(2): 181-185.
- Ravishankar D, rajora AK, Greco F, Osborn HMI. 2013. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 30:1-11.
- Rusmono M, Afnidar, Hartinawati. 2016. Sifat, Persyaratan, dan Tipe Air. <http://repository.ut.ac.id/> [21 Maret 2019].
- Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. 2003. Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal Research Reviews*. 23(4): 519-534.
- Rollando. 2016. Aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi hasil fermentasi fungi endofit genus *Cephalosporium* sp. diisolasi dari daun meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.). *Jurnal Wiyata*. 3(1): 5-10.
- Simbala HEI. 2009. Analisis senyawa alkaloid beberapa jenis tumbuhan obat sebagai bahan aktif fitofarmaka. *Pacific Journal*. 1(4): 489-494.
- Suharyanto, Tri-panji, Permatasari S, Syamsu K. 2014. Produksi *Spirulina platensis* dalam fotobioreaktor kontinyu menggunakan media limbah cair pabrik kelapa sawit. *Menara Perkebunan*. 82(1): 1-9.
- Sutejo RI, Putri H, Meiyanto E. 2016. Selektivitas ekstrak etanolik buah makassar (*Brucea javanica*) pada kanker payudara metastasis secara *in vitro*. *Journal of Agromedicine and Medical Science*. 2(1): 1-5.
- Syahril M, Roshani O, Hasyimah N, Hafiz M, Sharida MD, Ahmed HY. 2011. Screening of anticancer activities of crude extracts of unicellular green algae (*Chlorella vulgaris*) filamentous blue green algae (*Spirulina*) on selected cancer cell lines. *International Conference on Applied Science, Mathematics and Humanities*. 82-87.
- Wattanapitayakul SK, Chularojmontri L, Herunsalee A, Charuchongkolwongse S, Niumsukul S, Bauer JA. 2005. Screening of antioxidants from medicinal plants for cardioprotective effect against doxorubicin toxicity. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 96: 80.
- Wikanta T, Prabukusuma A, Ratih Dian, Januar HI. 2010. Bioaktivitas ekstrak kasar aseton, fraksi, dan subfraksinya dari *Ulva fasciata* terhadap sel lestari tumor HeLa. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 5(1): 1-9.
- Weerapreeyakul N, Nonpunya A, Barustux S, Thitimetharoch T, Sripanidkulchai B. 2012. Evaluation of the anticancer potential of six herbs against a hepatoma cell line. *Chinese Medical Journal*. 7(15): 1-7.
- Wyllie AH. 2010. Apoptosis, Cell Death, and Cell Proliferation. 3<sup>rd</sup> Ed. Roche Applied Science.
- Xue X, Yu JL, Sun DQ, Kong F, Qu XJ, Zou W, Wu J, Wang RM. 2014. Curcumin induces apoptosis in SGC-7901 gastric adenocarcinoma cells via regulation of mitochondrial signaling pathways. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 15(9): 3987-3992.
- Yildirim I, Kutlu T. 2015. Anticancer agents: saponin and tannin. *Journal of Biological Chemistry*. 9(6):332-340.
- Zachary I. 2003. Determination of Cell Number: Cell Proliferation and Apoptosis. In: Hughes D. and Mehmet H. Oxford (UK): BIOS Scientific Publisher Limited.
- Zakaria ZA, Mohamed AM, Jamil NS, Rofiee MS, Somchit MN, Zuraini A, Arifah AK, Sulaiman MR. 2011. In vitro cytotoxic and antioxidant properties of the aqueous, chloroform and methanol extracts of *Dicranopteris linearis* leaves. *African Journal of Biotechnology*. 10(2): 273-282.